



## **Escola Universitária Vasco da Gama**

### **Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

#### **Estudo Retrospectivo de Leptospirose na Região do Baixo Vouga entre 2011 e 2015**

**João Pedro Gonçalves da Cruz**

**Coimbra, Junho de 2016**



## **Escola Universitária Vasco da Gama**

### **Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

#### **Estudo Retrospectivo de Leptospirose na Região do Baixo Vouga entre 2011 e 2015**

**Coimbra, Junho de 2016**

**Autor:**

**João Pedro Gonçalves da Cruz**

**Aluno do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

#### **Constituição do Júri**

Professora Dr<sup>a</sup> Liliana Montezinho

Professora Dr<sup>a</sup> Anabela Almeida

Mestre Sofia Anastácio

#### **Orientador Interno**

Professora Dr<sup>a</sup> Sofia Duarte

#### **Co-orientador Interno**

Mestre Sofia Anastácio

#### **Orientador Externo**

Mestre Inês Santos

Dissertação do Estágio curricular dos ciclos de estudo conducentes ao  
Grau Mestre em Medicina Veterinária da EUVG

Por decisão pessoal, o autor não escreveu a dissertação segundo o novo Acordo Ortográfico

## RESUMO

A leptospirose, doença infecciosa, representa uma ameaça global para a Saúde Animal e Saúde Pública. Casos de leptospirose são descritos tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento, assim como em zonas rurais e urbanas. O polimorfismo clínico da leptospirose canina dificulta o seu diagnóstico e tratamento. Esta dificuldade limita a caracterização da doença quanto ao seu impacto, prevalência e distribuição. Desta forma, este estudo teve como objectivo caracterizar os casos de leptospirose canina, contribuindo para melhor percepção da doença em canídeos na região do Baixo Vouga, assim como identificar possíveis factores de risco associados à infecção nesta região. A realização de um estudo retrospectivo permitiu obter informação relativa aos casos de leptospirose diagnosticados em diferentes Centros de Atendimento Médico Veterinário da região do Baixo Vouga, entre 2011 e 2015. Os resultados obtidos permitiram verificar que o número de casos parece ser superior em meio rural que em meio urbano, assim como em animais com idade entre os 2 e 8 anos, com acesso simultâneo ao exterior e interior, coabitantes com outros animais. Constatou-se ainda uma grande inespecificidade do quadro clínico e que 50% dos casos ocorreram em animais vacinados. Estes resultados realçam a necessidade de realizar mais estudos na região uma vez que a implementação de medidas profiláticas como a vacinação parece não proteger de forma eficaz a expressão clínica. A grande diversidade de hospedeiros e o carácter zoonótico da leptospirose reforçam a necessidade de conhecer melhor a sua epidemiologia na população canina da região.

**Palavras-chave:** Baixo Vouga; cães; leptospirose; prevalência; sinais clínicos;

## **ABSTRACT**

*Leptospirosis, an infectious disease, represents a global threat to the Animal and Public Health. Leptospirosis cases are described both in developed and developing countries, as well as in rural and urban areas. The clinical presentation of canine leptospirosis complicates the diagnosis and treatment of the disease. This difficulty leads to poor characterization of the disease regarding its impact, prevalence and distribution. Thus, this study aimed to characterize the cases of canine leptospirosis diagnosed in veterinary clinics of the Baixo Vouga region, contributing to a better perception of the disease and to identify possible risk factors associated with infection of dogs in this region. A retrospective study was conducted to obtain information on the cases of leptospirosis occurred in the Baixo Vouga region between 2011 and 2015. The results showed that the number of cases was higher in rural areas than in urban areas, as well as in animals aged between 2 and 8 years, with simultaneous access to the exterior and interior and cohabiting with other animals. Additionally, a great polymorphism of clinical presentation was found and 50% of cases occurred in vaccinated animals. These results highlight the need to perform more studies in the region since the implementation of preventive measures such as vaccination seems to be ineffective in the protection of clinical expression. The wide host range and the zoonotic pattern of leptospirosis reinforce the need of better understanding its epidemiology in canine population of the region.*

**Keywords:** Baixo Vouga; clinical signs; dogs; leptospirosis; prevalence;

A todos os cães  
abandonados, maltratados,  
ignorados e negligenciados.

## AGRADECIMENTOS

Expresso a minha gratidão a todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho e ajudaram a torná-lo possível:

- Aos meus orientadores, **Professora Doutora Sofia Duarte** e **Mestre Sofia Anastácio** pela ajuda e esforço incansável que me prestaram durante a realização deste trabalho;
- À **Direcção da Escola Universitária Vasco da Gama**.
- A todos os **docentes** que me acompanharam durante os Ciclos de Estudo Conducentes ao Grau de Mestre em Medicina Veterinária;
- À **equipa do Hospital Veterinário de Aveiro**, em especial a **Dr. Inês Santos**, por me ter recebido e integrado nesta instituição e me ajudar a adquirir novos conhecimentos sobre a prática da Medicina Veterinária;
- A todas as **clínicas/hospitais veterinários e laboratórios** que contactei, pelo tempo e dados disponibilizados;
- Aos meus **amigos da Universidade Vasco da Gama** por terem contribuído para que os últimos seis anos da minha vida tenham sido aproveitados em pleno, com boa companhia;
- Aos meus 3 companheiros e amigos **Simão Leite, Tiago Vicente e Francisco Pereira** por terem sido a minha segunda família, ajudado a superar as saudades de casa;
- Aos meus amigos do coração, **Vanessa Raimundo, Catarina Abreu, Marlene Almeida e Adriano Vergueiro** por me acompanharem há muitos anos, e serem os meus grandes companheiros de maluqueiras e aventuras;
- Aos meus mestres, **Manuel Cruz e Maria Rosmaninho**, por me ajudarem a ser a pessoa que sou;
- Aos meus segundos pais, que me viram crescer e me educaram, os meus avós **Manuel Cruz e Ilda Martins**;
- À minha **família**, que ao longo destes anos me têm apoiado incansavelmente;
- Ao meu grande suporte, **Joana Veiga**, por me ter acompanhado nos últimos três anos da minha vida, sempre pronta para me ajudar a ser forte nos momentos mais difíceis e ter sempre um sorriso especial quando mais precisava de forças.



## ÍNDICE GERAL

RESUMO .....	V
ABSTRACT.....	VI
AGRADECIMENTOS.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	X
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	X
ÍNDICE DE TABELAS.....	X
LISTA DE ACRÓNIMOS, SIGLAS E ABREVIATURAS .....	XI
INTRODUÇÃO .....	1
MATERIAIS E MÉTODOS .....	4
1. Desenho do estudo .....	4
2. Recolha dos dados.....	4
3. Análise dos dados .....	5
RESULTADOS.....	6
1. Caracterização dos casos confirmados .....	7
2. Caracterização clínica.....	9
3. Caracterização laboratorial .....	10
DISCUSSÃO .....	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	14
ANEXOS .....	18

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Fotomicrografia de campo escuro (a) e incidência de electrões de <i>Leptospira</i> spp (b) .....	3
<b>Figura 2</b> - Mapa da distribuição dos Centros de Atendimento Médico Veterinário que cederam dados para este estudo.....	5
<b>Figura 3</b> - Distribuição dos casos em estudo pelas respectivas freguesias de origem.....	7

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b> - Percentagem de testes realizados no total dos 21 animais com possibilidade de serem casos de estudo .....	6
<b>Gráfico 2</b> - Número de casos registados durante o período 2011- 2015.....	9
<b>Gráfico 3</b> - Número de Componentes dos testes hematológicos realizados, associados com resultados fora dos valores normais para cães .....	10

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Características descritivas dos casos de estudo.....	8
<b>Tabela 2</b> - Tipos de exames bioquímicos realizados, associados ao número de animais que os realizaram, e aos valores apresentados como normais, diminuídos e aumentados. ....	10

## LISTA DE ACRÓNIMOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

ADN - ácido desoxirribonucleico

ALT - Alanina aminotransferase

BID – Duas vezes ao dia (do latim *bis in die*)

ELISA – Teste imunoenzimático (do inglês *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*)

EUA – Estados Unidos da América

G+C – Conteúdo em Guanina-Citosina

Ig – Imunoglobulina

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

LPS – Lipopolissacarídeos

MAT – Técnica de Aglutinação Microscópica (do inglês *Microscopic Agglutination Test*)

OIE – Organização Mundial para a Saúde Animal (do Francês *Office International des épizooties*)

PCR – Reacção em Cadeia da Polimerase (do Inglês *Polimerase Chain Reaction*)

SID – Uma vez ao dia (do Latim *semel in die*)

WHO – Organização Mundial de Saúde (do Inglês *World Health Organization*)

## INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose causada por espiroquetas do Género *Leptospira* que apresenta uma distribuição mundial. A incidência da infecção é superior em regiões de clima tropical, ocorrendo tanto em contexto rural como urbano (Bharti *et al.*, 2003; Hartskeerl *et al.*, 2011). A identificação do agente causador ocorreu pela primeira vez em 1816 por Adolf Weil, contudo a leptospirose é reconhecida como causa de morte desde as civilizações antigas (Levett, 2001). Em Portugal o primeiro isolamento do agente ocorreu em 1931 (Vieira *et al.*, 2006).

O Género *Leptospira* pertence à Ordem *Spirochaetales* e Família *Leptospiraceae*, compreendendo todas as espécies saprófitas e patogénicas (Adler & Moctezuma, 2010).

Tal como ilustrado na figura 1, as leptospirosas são espiroquetas, com cerca de 0,1µm de largura e 6-20µm de comprimento. Morfologicamente apresentam uma membrana dupla, com características comuns de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (Haake, 2000). As extremidades são afuniladas, em formato de gancho, contendo dois flagelos periplasmáticos, inseridos no espaço periplasmático, com função de motilidade (Li *et al.*, 2000; Levett, 2001; Adler & Moctezuma, 2010).

Genomicamente possuem dois cromossomas circulares, com dimensões diferentes, e com conteúdo de bases G+C de 35% a 41% (Ko *et al.*, 2009; McBride *et al.*, 2005).

A reprodução ocorre por divisão binária transversal, dependente de condições ambientais favoráveis (Vrain, 2004; Prescott *et al.*, 2002: 477-482).

Estas bactérias são organismos quimiorganotróficos, aeróbios obrigatórios, com temperatura óptima de crescimento entre 28 e 30°C, apresentando um resultado positivo nas provas de catalase e oxidase (Levett, 2001; Prescott *et al.*, 2002: 477-482).

Antigenicamente, as leptospirosas são categorizadas em 24 serogrupos e 250 serovares, com base na heterogeneidade estrutural dos lipopolissacarídeos (LPS) de superfície (Levett, 2001; Adler & Moctezuma, 2010; Evangelista & Coburn, 2010).

Os principais reservatórios de infecção são os roedores. Contudo os mamíferos domésticos ou selvagens são receptivos à infecção por leptospirosas, podendo actuar como hospedeiros de manutenção ou acidentais, de acordo com o grau de adaptação entre serovar infectante e hospedeiro infectado. O homem é considerado um hospedeiro acidental, sendo que ao contrário dos animais, não é portador renal das leptospirosas (Ko *et al.*, 2009; Ganoza *et al.*, 2010; Thayaparan *et al.*, 2013).

Num animal infectado, a eliminação das leptospirosas ocorre sobretudo através da urina, sendo que a transmissão ocorre geralmente após exposição directa ou indirecta com urina de animais excretadores/leptospirúricos, podendo também ocorrer uma transmissão transplacentária (Levett, 2001; André-Fontaine, 2006; Adler & Moctezuma, 2010).

As principais vias de entrada são a pele e mucosas, com destaque para a conjuntiva (Levett, 2001; Adler & Moctezuma, 2010).

A leptospirose é uma doença sistémica, atingindo os rins, o fígado, pulmões, baço, úvea/retina, músculo-esquelético e músculo cardíaco, meninges, pâncreas e tracto genital (Schuller *et al.*, 2015).

A capacidade infectante do agente depende da dose, da virulência e do serovar infectante (McDonough, 2001). Inicialmente as leptospiros entram no organismo através das mucosas ou da pele. Segue-se uma fase de leptospirémia durante 4 a 11 dias, com disseminação através do sistema circulatório, e causando lesão ao nível das células endoteliais. Nesta fase surgem os primeiros sinais clínicos associados a febre e alterações hematológicas. Durante esta fase de septicémia ocorre a disseminação das leptospiros no organismo com invasão da placenta e feto em fêmeas gestantes (McDonough, 2001).

A imunidade inata constitui a primeira linha de defesa do hospedeiro, desempenhando um papel crucial no reconhecimento precoce das leptospiros e na sua eliminação. Depende da capacidade dos hospedeiros em reconhecer os LPS presentes na membrana das leptospiros, variando a sua resposta consoante o serovar infectante (Evangelista & Coburn, 2010; Fraga *et al.*, 2011). A imunidade adquirida tem por base a capacidade de reconhecimento dos LPS, conferindo aos hospedeiros uma resposta imunológica mais eficaz após exposição inicial a anticorpos monoclonais ou policlonais anti-LPS (Fraga *et al.*, 2011).

A imunidade celular na resposta à infecção por leptospiros, em contraponto com a imunidade humoral, encontra-se ainda pouco compreendida (Naiman *et al.*, 2001).

O quadro clínico da leptospirose apresenta um carácter bifásico – fase aguda ou leptospirémia inicial seguida de uma fase imune (Levett, 2001). O período de incubação varia em geral, entre 5 e 14 dias após a infecção (McDonough, 2001; World Health Organization, 2003; Ko *et al.*, 2009; Adler & Moctezuma, 2010).

A idade, estado imunitário, estado vacinal e tempo de exposição são considerados factores de risco, e parecem influenciar a variabilidade e gravidade do quadro clínico, dificultando o diagnóstico da doença. Os principais sinais clínicos estão relacionados com a presença de lesões renais agudas e alterações hepáticas (Bharti *et al.*, 2003; Schuller *et al.*, 2015). Em hospedeiros de manutenção, a doença tende a manifestar-se de forma assintomática ou crónica, em contraste com hospedeiros acidentais em que a manifestação assume um carácter mais agudo e grave (McDonough, 2001; Ward, 2002; Bharti, *et al.*, 2003; Evangelista & Coburn, 2010; Adler & Moctezuma, 2010).

O diagnóstico da leptospirose baseia-se na detecção do agente ou na demonstração de um aumento do título de anticorpos específicos (McDonough, 2001; Adler & Moctezuma, 2010).

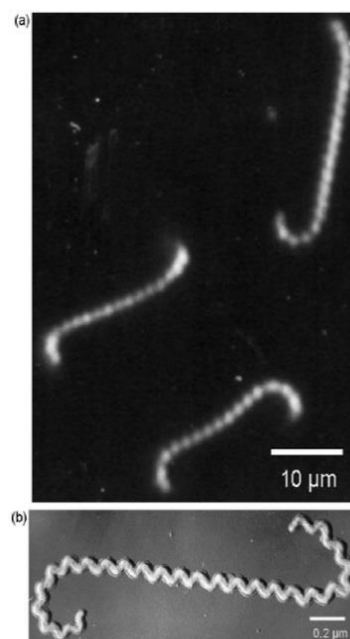
A maioria dos casos de leptospirose é diagnosticada por métodos serológicos, sendo os anticorpos detectáveis no sangue, aproximadamente 5 a 7 dias após o início dos sinais clínicos (Levett, 2001). Não poderão ser no entanto usados como método de identificação do serovar infectante, dado ser necessário isolamento do agente (OIE, 2014).

A técnica de aglutinação macroscópica (MAT; do Inglês *Microscopic Agglutination Test*) é considerada o teste de referência para o diagnóstico de leptospirose aguda (World Health Organization, 2003; Arent *et al.*, 2013; OIE, 2014). Consiste na avaliação *in vitro* do grau de aglutinação em diluições séricas do soro do animal adicionado um conjunto de serovares com maior representatividade na região (OIE, 2014). É um teste complexo no seu controlo, na execução e na leitura/interpretação. Por outro lado, apresenta limitações no diagnóstico de infecções crónicas em caso de animais vacinados contra a leptospirose, e no caso de animais com infecção prévia por um serogrupo leptospírico diferente - resposta amnésica (Levett, 2001; OIE, 2014). A detecção de IgM e/ou IgG pelo teste imunoenzimático (ELISA; do Inglês *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) é cada vez mais frequente, no entanto apresenta limitações semelhantes ao teste MAT (Abdoel, 2011; Schuller *et al.*, 2015). A técnica da Reacção em Cadeia da Polimerase (PCR; do Inglês *Polimerase Chain Reaction*) é cada vez mais popular nos últimos anos, em especial em animais suspeitos da doença e com historial de vacinação recente, uma vez que os anticorpos vacinais podem interferir com os resultados dos testes serológicos. Contudo os elevados custos associados e a incapacidade de identificar serovares infectantes ainda são factores desfavoráveis (OIE, 2014; Schuller *et al.*, 2015).

O sucesso do tratamento da leptospirose depende da gravidade e duração dos sinais clínicos do animal (Levett, 2001). Na presença de alterações renais e/ou leptospirémia deve ser instituída uma terapia antimicrobiana, na qual a escolha inicial depende da capacidade do animal em tolerar a administração oral de doxiciclina (5mg/kg BID ou 10mg/kg SID durante 14 dias) (McDonough, 2001; Schuller *et al.*, 2015).

A vacinação é a medida mais usada no controlo médico da leptospirose, sendo considerada vacina não essencial em cães (Day *et al.*, 2016). As vacinas utilizadas para a imunização dos animais são vacinas inactivadas preparadas a partir de suspensões bacterianas inactivadas ou a partir de fracções da membrana externa (Fraga *et al.*, 2011). Para além da vacinação, o controlo da infecção baseia-se também no controlo de infecções nos animais selvagens e domésticos, sendo os animais reservatórios (em especial os roedores) e ambientes contaminados o principal alvo para uma eficaz prevenção da doença (Spickle & Leedom Larson, 2013).

O elevado polimorfismo clínico da leptospirose pode dificultar o seu diagnóstico e, consequentemente levar a um fraco conhecimento da epidemiologia da infecção numa determinada área geográfica. Estudos recentes efectuados em Portugal,



**Figura 1** - Fotomicrografia de campo escuro (a) e incidência de electrões de *Leptospira* spp (b) (Adaptado de Adler & Moctezuma, 2010)

avaliaram a seroprevalência em populações de cães errantes em Coimbra (Duarte, 2007), na região metropolitana de Lisboa (Duarte, 2015), a evolução clínica de cães diagnosticados com leptospirose admitidos em CAMVs na região de Beja (Lança, 2011). O presente estudo teve como objectivo analisar o impacto da doença na população canina da região do Baixo Vouga e caracterizar os casos de infecção de forma a contribuir para uma melhor percepção da doença em cães, assim como identificar possíveis factores de risco associados à infecção nesta região. De referir que existem outros estudos sobre leptospirose canina em Portugal, nomeadamente Duarte, 2007, Lança 2011 e Duarte, 2015.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

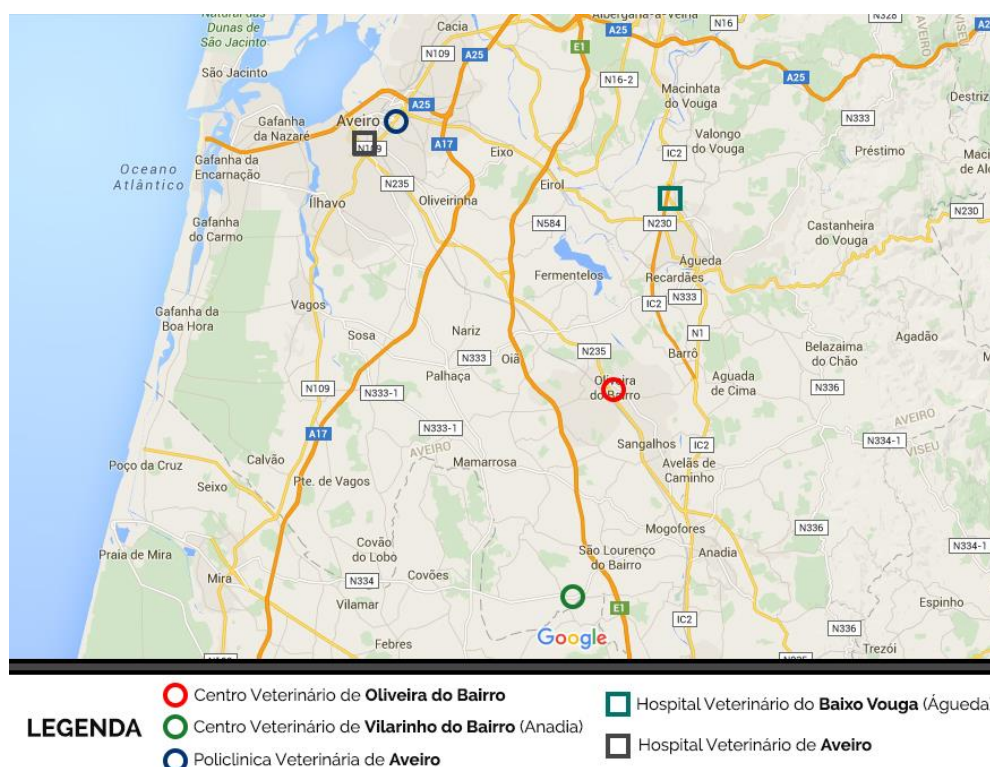
### **1. Desenho do estudo**

De forma a concretizar os objectivos propostos foi delineado um estudo retrospectivo dos casos de leptospirose canina ocorridos entre 2011 e 2015, nos concelhos de Águeda, Albergaria-a-Velha, Estarreja, Anadia, Aveiro, Ílhavo, Murtosa, Oliveira do Bairro, Ovar, Sever do Vouga, e Vagos.

Para este estudo, foi considerado um caso suspeito de leptospirose, um animal que no período considerado apresentou sinais clínicos compatíveis com leptospirose e/ou em que pelo menos um teste laboratorial para pesquisa de anticorpo específicos anti-leptospira e/ou detecção de DNA leptospírico foi realizado. Os principais sinais clínicos considerados foram anorexia, vómitos, dor abdominal, diarreia e icterícia (Schuller *et al.*, 2015). Os testes considerados foram ELISA, MAT e PCR.

### **2. Recolha dos dados**

A selecção dos casos foi efectuada através de uma amostragem de conveniência. Numa primeira fase foi efectuado um primeiro contacto com dez Centros de Atendimento Médico-Veterinário situados na região do Baixo Vouga, com o intuito de analisar a ocorrência de casos suspeitos e/ou confirmados de leptospirose no período de tempo definido para o estudo e averiguar sobre a disponibilidade em colaborar. Após a concordância na colaboração, foi solicitada a pesquisa de informação sobre os casos de leptospirose, durante o período de tempo definido, tendo sido seleccionados apenas os que cumpriam os critérios de inclusão. Tal como ilustrado na figura 2, para este estudo apenas contribuíram cinco dos dez Centros de Atendimento Médico-Veterinário que inicialmente concordaram em participar no estudo - a Policlínica de Aveiro, o Centro Veterinário de Vilarinho do Bairro (Anadia) e o Centro Veterinário de Oliveira do Bairro, assim como os hospitais veterinários de Aveiro e do Baixo Vouga (Águeda).



**Figura 2** - Mapa da distribuição dos Centros de Atendimento Médico Veterinário que cederam dados para este estudo.

### 3. Análise dos dados

A informação foi organizada numa base de dados em ficheiro Excel. Foram considerados três grupos de variáveis: 1) caracterização da população em estudo (idade, sexo, raça, estado vacinal, meio ambiente, acesso ao meio ambiente, coabitação com outros animais); 2) caracterização clínica dos casos de leptospirose (sinais clínicos); 3) caracterização laboratorial (dados hematológicos, dados bioquímicos, dados serológicos e dados moleculares). Foram considerados como casos de leptospirose todos os que apresentaram sinais clínicos compatíveis com resultados de serologia ELISA (IgG)  $\geq 1:400$  ou MAT  $\geq 1:400$  e não vacinado nos últimos 6 meses ou PCR positivo (IDEXX Reference Laboratories, 2014). As análises foram realizadas nos laboratórios INNO – Serviços Especializados em Veterinária, Lda (Braga) e Segalab – Laboratório de Sanidade Animal e Segurança Alimentar, S.A. (Póvoa do Varzim).

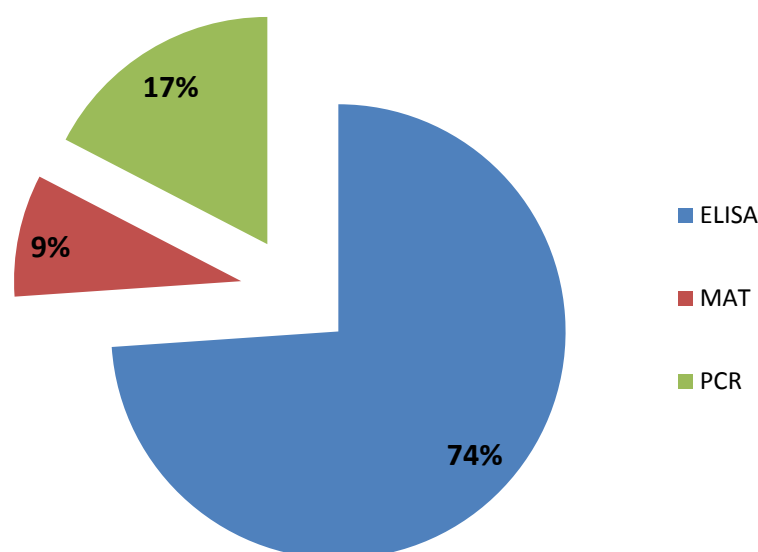
A análise dos resultados do hemograma sérico teve em conta os valores de referência do Manual Merck (Merck Sharp & Dohme Corp, 2015). Desta forma, contagens de eritrócitos inferiores a  $4.95 \times 10^6/\mu\text{L}$  foram consideradas anemia, valores de leucócitos superiores a  $16 \times 10^9/\text{L}$  foram considerados leucocitose, valores de neutrófilos superiores a  $12 \times 10^3/\mu\text{L}$  foram considerados neutrofilia e valores de plaquetas inferiores a  $211 \times 10^3/\mu\text{L}$  foram considerados trombocitopenia. O mesmo sucedeu para os resultados da bioquímica sérica, que tiveram em conta os valores de referência do Manual Merck (Merck Sharp & Dohme Corp., 2015).

Os resultados foram analisados utilizando os programas estatísticos Epiinfo (versão 7) e Vassarstats.



## RESULTADOS

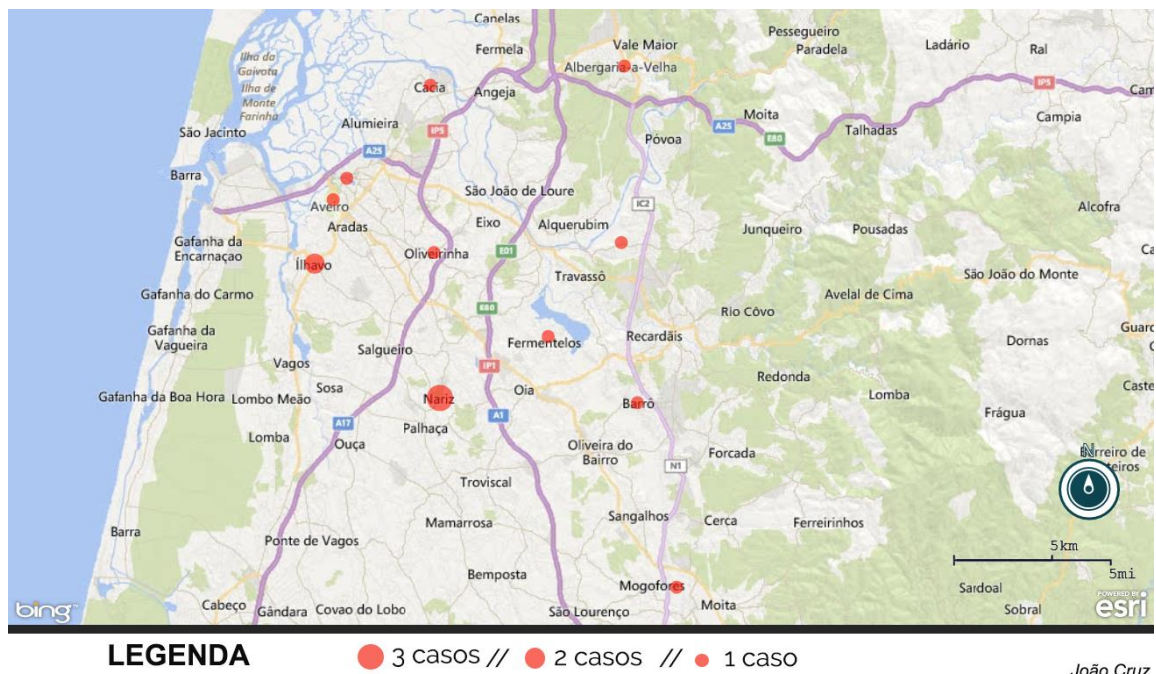
Um total de 23 casos suspeitos de leptospirose foi registrado num primeiro levantamento de informação a partir dos Centros de Atendimento Médico-Veterinário que aceitaram participar neste estudo. Contudo, dois casos foram excluídos por não apresentarem os critérios de inclusão definidos para este estudo. Assim, este estudo incluiu 21 casos suspeitos de leptospirose. Como ilustra o gráfico 1, a pesquisa de anticorpos específicos por ELISA foi realizada em 17 animais (74%), tendo-se obtido em três (17,7%; 95%IC: 3,8-43,4) um resultado negativo ( $<1:50$ ), em três (17,7%; 95%IC: 3,8-43,4) um resultado duvidoso ( $<1:100 - 1:200$ ) e em 11 (64,7%; 95%IC 29,8-74,3) um resultado positivo ( $\geq 1:400$ ). Além disso, foi também efectuada a pesquisa de anticorpos específicos pelo teste MAT em dois animais, tendo-se obtido um resultado negativo ( $<1:400$ ) num animal (50%; 95%IC 1.3-98.7) e um resultado positivo ( $\geq 1:400$ ) no outro animal. O diagnóstico molecular por PCR foi realizado em quatro (17%) animais, onde em dois dos quais (50%; 95%IC 6.8-93.2) o resultado foi negativo, e nos restantes dois (50%) o resultado foi positivo. Nos dois animais com diagnóstico molecular negativo, foi realizada a pesquisa de anticorpos específicos por ELISA tendo o resultado sido positivo. Assim, a infecção foi confirmada em 14 animais, sendo que em sete animais o resultado laboratorial negativo não permitiu confirmar a presença de infecção.



**Gráfico 1** - Percentagem de testes realizados no total dos 21 animais com possibilidade de serem casos de estudo.

## 1. Caracterização dos casos confirmados

Entre os casos de leptospirose, a média de idade foi estimada em 60 meses (DP=44,7 meses). Não se verificaram diferenças entre animais do sexo masculino (50%; 95%IC: 23-77) e feminino, mas entre os casos constatou-se um predomínio de animais da raça Labrador Retriever (28,6%; 95%IC: 8,4-58,1), provenientes de meio rural (64,3%; 95%IC: 35,1-87,2), com acesso simultâneo ao exterior e interior (85,7%; 95%IC: 57,2-98,2), e coabitantes com outros animais (57,1%; 95%IC: 28,9-82,3). Em relação à vacinação, cerca de 50% (95%IC: 23-77) dos casos apresentavam um historial de vacinação, sendo que 42,9% (95%IC: 9,9-81,6) destes havia sido vacinado há menos de 1 ano. Tal como ilustra a figura 3, as freguesias que apresentaram maior percentagem de casos foram as freguesias de Nariz, do concelho de Aveiro (21,4%; 95%IC: 4,7-50,8) e Ílhavo, do concelho de Ílhavo (14,29%; 95%IC: 1,8-42,8).



**Figura 3** - Distribuição dos casos em estudo pelas respectivas freguesias de origem.

**Tabela 1 – Características descritivas dos casos de estudo**

Variável	Frequência	Percentagem (%)	IC 95% <sup>(a)</sup>
<b>Casos em estudo</b>	14 <sup>(b)</sup>		
<b>IDADE</b>			
<1	3	23,08	6,16 – 54,02
1 – 5,9	5	38,46	15,13 – 67,72
6 – 9,9	3	23,08	6,16 – 54,02
>10	2	15,38	2,71 – 46,33
<b>MEIO</b>			
Rural	9	64,29	35,14 - 87,24
Urbano	5	35,71	12,76 - 64,86
<b>GÊNERO</b>			
Macho	7	50	23,04 - 76,96
Fêmea	7	50	23,04 - 76,96
<b>AMBIENTE</b>			
Sem dados disponíveis	1	7,14	0,18 - 33,87
Outdoor	1	7,14	0,18 - 33,87
Misto	12	85,71	57,19 - 98,22
<b>COABITAÇÃO COM ANIMAIS</b>			
Sem dados disponíveis	5	35,71	12,76 - 64,86
Sim	8	57,14	28,86 - 82,34
Não	1	7,14	0,18 - 33,87
<b>VACINAÇÃO <sup>(c) (d)</sup></b>			
Sem dados disponíveis	3	21,43	4,66 - 50,80
Sim	7	50	23,04 - 76,96
Não	4	28,57	8,39 - 58,10
<b>VACINAÇÃO &lt;1ANO</b>			
Sim	3	42,86	9,90 - 81,59
Não	4	57,14	18,41 - 90,10

<sup>(a)</sup> **Intervalo de confiança** - intervalo estimado onde a média de um parâmetro de uma amostra tem uma dada probabilidade de ocorrer;

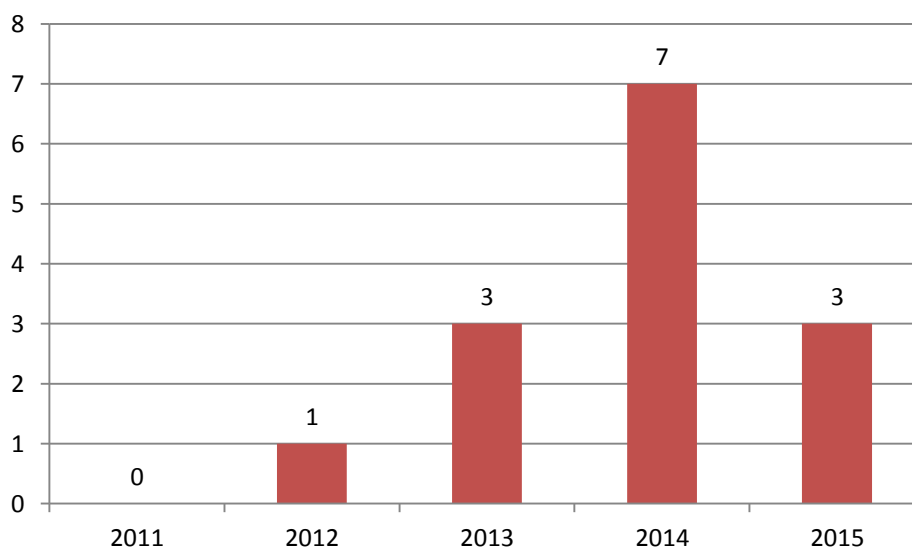
<sup>(b)</sup> **Excepção** - não é possível determinar a idade de um dos casos;

<sup>(c)</sup> **Vacinação** – de acordo com as Guias de Orientação para a Vacinação de cães e gatos do World Small Animal Veterinary Association (Day *et al.*, 2016);

<sup>(d)</sup> **Serogrupos contemplados na vacinação** – *L. interrogans* serogrupo canicola e *L. interrogans* serogrupo Icterohaemorrhagiae.

## 2. Caracterização clínica

A primeira consulta dos animais ocorreu predominante entre os dias 16 e 31 (57,14%; 95%IC: 29,7-81,2), dos meses de Outubro a Março (78,6%; 95%IC: 48,8-94,3) e dos anos de 2014 e 2015 (71,4%; 95%IC: 42-90,4), como ilustra o gráfico 2. O número médio de casos por ano foi estimado em 2,8 (mínimo=0; máximo=7).



**Gráfico 2** - Número de casos registrados durante o período 2011- 2015

Entre os 14 casos de leptospirose, 12 (85,7%; 95%IC: 56,2-97,5) apresentaram sinais clínicos suspeitos de leptospirose, sendo os restantes dois animais testados para despiste da doença, por convivência com um dos animais confirmados com leptospirose.

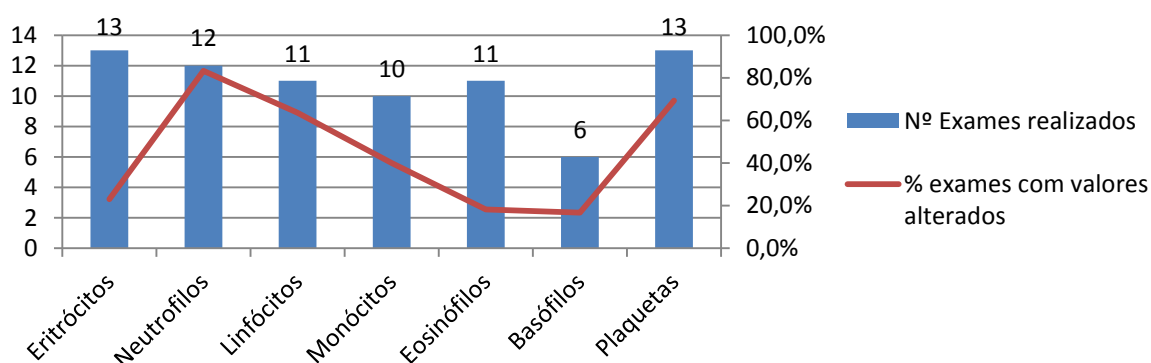
Os principais sinais clínicos reportados nos casos de leptospirose foram prostração (71,4%; n=10; 95%IC: 41,9-91,6), anorexia (64,3%; n=9; 95%IC: 35,1-87,2) e vômitos (57,1%; n=8; 95%IC: 28,9-82,3).

No exame físico, as principais alterações encontradas foram dor abdominal (50%; n=7; 95%IC: 23-77), icterícia (35,7%; n=5; 95%IC: 12,8-64,9) e taquicardia (21,4%; n=3; 95%IC: 4,7-50,8). Apenas quatro animais (28,6%; n=4; 95%IC: 8,4-58,1) apresentaram hipertermia (>39°C) e nenhum apresentou hipotermia.

Não foram registados resultados de imagiologia.

### 3. Caracterização laboratorial

Os resultados de provas complementares de diagnóstico foram também analisados, estando estes ilustrados no gráfico 3. Em 13 dos 14 casos (92,9%) foi realizado um hemograma. Em três animais (23,1%; 95%IC 5-53,8) observaram-se valores compatíveis com anemia. Relativamente ao Leucograma verificou-se a ocorrência de leucocitose em 10 animais (83,3%; 95%IC: 38,4-83,7), caracterizada por neutrofilia em 10 de 12 animais (83,3%; 95%IC: 38,4-83,7) testados para este parâmetro. A contagem de plaquetas foi realizada em 13 casos (92,9%), sendo que em 9 animais (69,2%, 95%IC: 38,6-90,9) se verificaram valores compatíveis com trombocitopenia.



**Gráfico 3** - Número de componentes dos testes hematológicos realizados, associados com resultados fora dos valores normais para cães.

Em 14 (85,7%) animais foram realizados exames bioquímicos. Contudo nem todos os parâmetros foram testados de igual forma em todos os animais.

**Tabela 2**- Tipos de exames bioquímicos realizados, associados ao número de animais que os realizaram, e aos valores apresentados como normais, diminuídos e aumentados.

Enzimas /Proteínas	Número de casos	Valores Aumentados	Valores diminuídos	Valores normais
Ureia	12 (85,71%)	10 (83,33%)	0 (0%)	2 (16,67%)
Creatinina	12 (85,71%)	10 (83,33%)	0 (0%)	2 (16,67%)
Fosfatase Alcalina	10 (71,43%)	7 (70%)	0 (0%)	3 (30%)
ALT	7 (50%)	7 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Albumina	5 (35,71%)	3 (60%)	0 (0%)	2 (40%)
Glicose	4 (28,57%)	3 (75%)	0 (0%)	1 (25%)
cPLI	4 (28,57%)	2 (50%)	0 (0%)	2 (50%)
Bilirrubina	4 (28,57%)	2 (50%)	0 (0%)	2 (50%)
Proteínas Totais	2 (14,29%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Sódio	1 (7,14%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)
Cloro	1 (7,14%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)
Potássio	1 (7,14%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)
Fósforo	1 (7,14%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)

**cPLI** – teste de imunoreactividade da lipase pancreática canina; **ALT** - alanina aminotransferase;

## DISCUSSÃO

No presente estudo, o número médio de casos de leptospirose foi superior ao número indicado num estudo anterior realizado em diferentes distritos do país (Lança, 2011), porém inferior ao estudo de Duarte (2015) na região da Grande Área Metropolitana de Lisboa. Esta diferença poderá estar associada a vários factores, designadamente o método de selecção dos casos (Centros de Atendimento Médico-Veterinário *versus* contactos telefónicos), o período de tempo de estudo (5 anos *versus* um ano) e às condições geo-ambientais da região do Litoral de Portugal que parecem favorecer a transmissão da doença entre pessoas e animais (Vieira *et al.*, 2006).

A taxa de infecção tende a ser superior em meio urbano que em meio rural (Alton *et al.*, 2009; Azócar-Aedo & Monti, 2015). No presente estudo verificou-se uma taxa de infecção inferior em animais residentes em meio urbano (35%). Este facto pode ser explicado por condições de higiene superiores nos centros urbanos, assim como uma maior dificuldade dos cães contactarem com possíveis portadores da doença ou áreas contaminadas com leptospirosas.

Entre os anos de 2014 e 2015 verificou-se um aumento do número de casos. Este aumento poderá estar relacionado com as alterações dos programas informáticos de registo dos dados dos animais (que permitiu uma melhor registo dos dados clínicos dos animais), com a pluviosidade na região do Baixo Vouga (superior nestes dois anos, comparativamente ao período entre 2011 e 2013 podendo ter favorecido a transmissão do agente), assim como a temperatura média do ar (superior no período entre 2013 e 2015) (Pordata, Fundação Francisco Manuel dos Santos, 2016)

Na análise de outras variáveis de caracterização dos casos verificou-se que a idade compreendida entre os 2 e 8 anos, o acesso ao exterior e interior e a coabitação com outros animais, parecem ser mais frequentes nos casos de leptospirose canina, enquanto o sexo é uma variável de menor importância. Estes resultados diferem dos resultados obtidos por Lança (2011) e Duarte (2015) no que respeita ao sexo dos animais, tendo-se verificado relativa concordância com variável acesso ao exterior e interior e média de idades. As discrepâncias verificadas demonstram a existência de uma variabilidade de factores de risco para as populações caninas, referidas na bibliografia internacional (Ward, 2002; Azócar-Aedo & Monti, 2015).

A raça Labrador Retriever foi a que apresentou maior número de casos confirmados de leptospirose, o que vem parcialmente ao encontro de estudo realizado nos EUA e Canadá por Ward (2002). Neste estudo, esta raça surge em segundo lugar entre as raças de animais com maior incidência de leptospirose, apenas ultrapassada pelos animais de raça não definida. Porém, dado o baixo número de casos neste estudo, a raça Labrador Retriever apresentou maior número de casos confirmados do que os animais de raça não definida, sendo que a diferença entre ambos é apenas de 1 animal, pelo que não se pode considerar apenas esta raça como possível factor de risco, mas sim os animais de raça Labrador Retriever e de Raça não definida. A razão para esta raça apresentar maior predisposição para a infecção por leptospirose não existe ainda na bibliografia.

Quanto ao plano vacinal, metade dos casos estudados apresentava um histórico de vacinação, dos quais cerca de metade terá sido vacinado no ano anterior à ocorrência da doença, como recomendado pelas Guias de Orientação para a Vacinação de cães e gatos do World Small Animal Veterinary Association (Day *et al.*, 2016). Além deste dado, foi encontrado (resultado não apresentado) num dos casos que realizou o teste MAT, a presença dos serovares Autumnalis (1:800), Pomona (1:1600) e Bratislava (1:1600) que não estão abrangidos ainda pelas vacinas disponíveis no mercado contra a leptospirose. Estes dados vem reforçar a falha da vacina em imunizar contra todos os serovares infectantes, em resultado de possíveis alterações epidemiológicas da leptospirose canina. De igual forma, confirma-se a ocorrência de um maior número de casos residentes em meio rural, uma vez que estes serovares têm como hospedeiros naturais animais domésticos e silvestres. Assim a caracterização epidemiológica regular da infecção por *Leptospira* nas várias espécies animais com identificação dos principais serovares infectantes é essencial para uma protecção vacinal mais eficaz (Scanziani *et al.*, 2002; Adesiyun *et al.*, 2006).

Os principais sinais clínicos encontrados são similares aos descritos em diversos estudos internacionais, nomeadamente Adesiyun e col. (2006) e Geisen e col. (2007). Destacam-se sinais inespecíficos como a prostração e anorexia. No entanto, sinais como o vômito, a icterícia e a dor abdominal são sinais mais específicos do envolvimento do sistema renal e gastrointestinal, resultante da fase de leptospiémia, em que órgãos como o rim e o fígado sofrem lesões significativas (Ko *et al.*, 2009). Contrariamente ao descrito na bibliografia nenhum dos casos estudados apresentou sinais clínicos compatíveis com síndrome hemorrágica pulmonar que têm aumentado a sua frequência na população canina nos últimos anos (Klopfeisch *et al.*, 2010). As razões para justificar este facto poderão ser diversas, estando eventualmente relacionadas com os serovares infectantes nos casos destes estudo. Poucos estudos sobre leptospirose canina relacionam determinados serovares com a ocorrência de síndrome hemorrágica pulmonar, sendo que, em humanos, um estudo de Gouveia e col. (2008) refere uma associação entre o serovar Copenhageni e a ocorrência de síndrome hemorrágica pulmonar. Assim, seria interessante realizar estudos mais aprofundados sobre os serovares mais prevalentes na região deste estudo e tentar estabelecer uma associação entre a não-ocorrência deste achado clínico com os serovares infectantes.

As alterações encontradas no hemograma foram concordantes com o descrito na bibliografia (Geisen *et al.*, 2007; Lança, 2011; Duarte, 2015), com predomínio de leucocitose associada a neutrofilia e trombocitopenia. Estas alterações podem ser explicadas pela patogenia do agente, em que durante o período de leptospiémia se vai desencadear uma resposta imunológica inespecífica inicial, responsável pelo défice plaquetário em humanos (Medeiros *et al.*, 2010). De destacar também a relação entre os exames hematológicos (ilustrado no gráfico 3) requisitados pelos clínicos, onde se verificou um destaque para as contagens de eritrócitos e plaquetas. De facto, os veterinários, perante a suspeita de um animal infectado com leptospirose, parecem sensibilizados para estes parâmetros sanguíneos, que poderão estar predominantemente alterados, em especial as plaquetas, conforme foi possível observar nos dados hematológicos obtidos neste estudo. A análise bioquímica sérica

evidenciou a ocorrência de azotémia, aumento da creatinina e aumento das enzimas hepáticas (fosfatase alcalina e alanina aminotransferase – ALT), evidenciando o envolvimento dos sistemas renal e gastrointestinal.

O número baixo de Centros de Atendimento Médico-Veterinário que participaram no estudo pode constituir um ponto fraco do trabalho desenvolvido. A taxa de não resposta à primeira abordagem foi elevada (50%) sendo que a ausência de dados ou a falta de disponibilidade poderá ter contribuído para a não resposta. Confirma-se assim uma das desvantagens já descritas para os estudos retrospectivos (Toma *et al.*, 2004).

O presente estudo considerou apenas casos agudos de doença em animais que apresentavam títulos de anticorpos compatíveis com a presença da doença ou que apresentavam resultado positivo na pesquisa do agente por métodos moleculares. Assim os resultados obtidos poderão estar enviesados e pouco completos. Acresce ainda, que o MAT é considerado como teste de referência para o diagnóstico serológico (OIE, 2014), sendo que neste estudo apenas dois animais foram testados por este método (ilustrado no gráfico 2). Assim, apenas foram identificados animais como positivos ou negativos, não se tendo obtido informação sobre os serovares infectantes. Contudo, o teste ELISA tem sido referido como um teste válido na confirmação de casos clínicos de Leptospirose, sendo vantajoso relativamente à execução e interpretação de resultados comparativamente ao MAT (OIE, 2014) o que valoriza a informação obtida neste estudo visto que foi o principal teste utilizado para o diagnóstico dos casos estudados.

Conclui-se então que o **número de casos de Leptospirose registados na Região do Baixo Vouga, entre 2011 e 2015, poderá ser inferior ao número de casos reais**, devido à grande diversidade de manifestações clínicas, muitas vezes inespecíficas e mimetizando quadros de outras doenças, dificulta o seu diagnóstico (Bharti *et al.*, 2003). De igual forma conclui-se que **as medidas profiláticas nomeadamente a vacinação, parecem não proteger de forma eficaz a expressão clínica**, pelo que a grande diversidade de hospedeiros e o carácter zoonótico da infecção reforçam a necessidade de conhecer melhor a epidemiologia da infecção na população canina da região.

Assim, e dado o impacto desta doença na saúde animal e humana, é necessário continuar a realizar novos estudos sobre esta doença, e aprofundar os aspectos clínicos e epidemiológicos por forma a diminuir a prevalência desta doença.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdoel, T. H. (2011). Rapid test for the serodiagnosis of acute canine leptospirosis. *Vet. Microbiol.*
- Adesiyun, A. A., Hull-jackson, C., Mootoo, N., Halsall, S., Bennett, R., Clarke, N. R., . . . Seepersadsingh, N. (2006). Sero-epidemiology of Canine Leptospirosis in Trinidad: Serovars, Implications for Vaccination and Public Health. *J. Vet. Med.*, 53, 91-99.
- Adler, B. A., & Moctezuma, A. d. (2010). Leptospira and Leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, 140, 287–296.
- Alton, G. D., Berke, O., Reid-Smith, R., Ojkic, D., & Prescott, J. F. (2009). Increase in seroprevalence of canine leptospirosis and its risk factors, Ontario 1998–2006. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 73, 167-175.
- André-Fontaine, G. (2006). Canine leptospirosis--do we have a problem? *Vet Microbiol.*, 19-24.
- Arent, Z. J., Andrews, S., & Adamama-Moraitou, K. (2013). Emergence of novel Leptospira serovars: a need for adjusting vaccination policies for dogs? *Epidemiology & Infection*, 141, 1148-1153.
- Azócar-Aedo, L., & Monti, G. (2015). Meta-Analyses of Factors Associated with Leptospirosis in Domestic Dogs. *Zoonoses and Public Health*, 1 - 7.
- Bharti, A. R., Nally, J. E., Ricaldi, J. N., Matthias, M. A., Diaz, M. M., Lovett, M. A., . . . Vinetz, J. M. (2003). Leptospirosis: a zoonotic disease of global. *Infectious Diseases*, 759 - 762.
- Day, M. J., Horzinek, M. C., Schultz, R. D., & Squires, R. A. (Janeiro de 2016). Guidelines for the vaccination of dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, 57.
- Duarte, R. (2015). *Contributo para o estudo da leptospirose canina na grande área metropolitana de lisboa*. Universidade de Lisboa. Lisboa: Universidade de Lisboa.
- Duarte, S. (2007). *Epizootiologia da leptospirose canina no concelho de Coimbra*. Coimbra: Escola Universitária Vasco da Gama.
- Evangelista, K. V., & Coburn, J. (5 de Setembro de 2010). Leptospira as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiol*, 1413–1425.
- Fraga, T. R., Barbosa, A. S., & Isaac, L. (2011). Leptospirosis: Aspects of Innate Immunity, Immunopathogenesis and Immune Evasion From the Complement System. *Scandinavian Journal of Immunology*, 408–419.
- Ganoza, C. A., Matthias, M. A., Saito, M., Cespedes, M., Gotuzzo, E., & Vinetz, J. M. (2010). Asymptomatic Renal Colonization of Humans in the Peruvian Amazon by Leptospira. *PLoS Negl Trop Dis*, 1-9.

- Geisen, V., Stengel, C., Brem, S., Muller, W., Greene, C., & Hartmann, K. (Junho de 2007). Canine leptospirosis infections - clinical signs and outcome with different suspected *Leptospira* serogroups (42 cases). *Journal of Small Animal Practice*, 48, 324-328.
- Gouveia, E. L., John, M., Carvalho, A. L., Aires, T. S., Villasboas-Bisneto, J. C., Queiroz, A., . . . Ko, A. I. (Março de 2008). Leptospirosis - associated Severe Pulmonary Hemorrhagic Syndrome, Salvador, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, 14, 505 - 508.
- Haake, D. A. (2000). Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis. *Microbiology*, 1491-1504.
- Hartskeerl, R. A., Collares-Pereira, M., & Ellis, W. A. (24 de Janeiro de 2011). Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of. *Clin Microbiol Infect*, 494-501.
- IDEXX Reference Laboratories. (Abril de 2014). *Diagnosing and Managing Canine Leptospirosis*. Obtido de Idexx: <https://www.idexx.com/files/small-animal-health/products-and-services/reference-laboratories/canine-leptospirosis-test-dx-update.pdf>
- Klopfleisch, R., Kohn, B., Plog, S., Weingart, C., Nöckler, K., Mayer-Scholl, A., & Gruber, A. D. (2010). An Emerging Pulmonary Haemorrhagic Syndrome in Dogs: Similar to the Human Leptospiral Pulmonary Haemorrhagic Syndrome? *Veterinary Medicine International*, 1 - 7.
- Ko, A. I., Cyrille, G., & Mathieu, P. (Outubro de 2009). *Leptospira*: The Dawn of the Molecular Genetics Era for an Emerging Zoonotic Pathogen. *Nat Rev Microbiol.*, 736-747.
- Lança, S. O. (2011). *Contribuição para o estudo da Leptospirose em Portugal*. Lisboa: Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.
- Levett, P. N. (Abril de 2001). Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 296-326.
- Li, C., Motaleb, A., Sal, M., Goldstein, S. F., & Charon, N. W. (2 de Outubro de 2000). Spirochete periplasmic flagella and motility. *J Mol Microbiol Biotechnol*, 2, 345-54. *J Mol Microbiol Biotechnol*, 345-54.
- Lowry, R. (2016). *Vassarstats - The Confidence Interval of a Proportion*. Obtido de Vassarstats: <http://vassarstats.net/>
- McBride, A. J., Athanazio, D. A., Reis, M. G., & Ko, A. I. (2005). Leptospirosis. *Curr Opin Infect Dis.*, 376 - 386.
- McDonough, P. L. (2001). Leptospirosis in Dogs - Current Status. *International Veterinary Information Service*.
- Medeiros, F. d., Spichlerb, A., & Athanazio, D. A. (3 de Março de 2010). Leptospirosis-associated disturbances of blood vessels, lungs and hemostasis. *Acta Tropica* 115, pp. 158 - 159.
- Merck Sharp & Dohme Corp. (Outubro de 2015). *Referências Hematológicas*. Obtido em Abril de 2016, de The Merck Veterinary Manual:

[http://www.merckvetmanual.com/mvm/appendixes/reference\\_guides/hematologic\\_reference\\_ranges.html](http://www.merckvetmanual.com/mvm/appendixes/reference_guides/hematologic_reference_ranges.html)

Merck Sharp & Dohme Corp. (Outubro de 2015). *Referências de Bioquímica Sérica*. Obtido em Abril de 2016, de The Merck Veterinary Manual:  
[http://www.merckvetmanual.com/mvm/appendixes/reference\\_guides/serum\\_biochemical\\_reference\\_ranges.html](http://www.merckvetmanual.com/mvm/appendixes/reference_guides/serum_biochemical_reference_ranges.html)

Naiman, B. M., Alt, D., Bolin, C. A., Zuerner, R., & Baldwin, C. L. (2001). Protective killed *Leptospira borgpetersenii* vaccine induces potent Th1 immunity comprising responses by CD4 and gamma delta T lymphocytes. *Infect Immun*, 7550–7558.

OIE. (2014). Leptospirosis. In OIE, *OIE Terrestrial Manual 2014* (pp. 1-12). OIE.

Pordata. (2016 de Janeiro de 2016). *Fundação Francisco Manuel dos Santos*. Obtido em Abril de 2016, de Pordata - Temperatura média do ar (média anual):  
<http://www.pordata.pt/DB/Portugal/Ambiente+de+Consulta/Tabela/5695683>

Pordata. (26 de Janeiro de 2016). *Fundação Francisco Manuel dos Santos*. Obtido em Abril de 2016, de Pordata - Precipitação Total em Portugal :  
<http://www.pordata.pt/DB/Portugal/Ambiente+de+Consulta/Tabela>

Prescott, L. M., Harley, J. P., & Donald, A. K. (2002). *Microbiology*. McGraw–Hill.

Scanziani, E., Origgi, F., Giusti, A. M., Iacchia, G., Vasino, A., Pirovano, G., . . . Tagliabue, S. (Abril de 2002). Serological survey of leptospiral infection in kennelled dogs in Italy. *Journal of Small Animal Practice*, 43, 154 - 157.

Schuller, S., Francey, T., Hartmann, K., Hugonnard, M., Kohn, B., Nally, J. E., & Sykes, J. (Março de 2015). European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, 56, 159–179.

Spickle, A. R., & Leedom Larson, K. R. (2013). *Leptospirosis*. Iowa, EUA: Iowa State University.

Thayaparan, S., Robertson, I. D., & Fairu, A. (2013). Leptospirosis, an emerging zoonotic disease in Malaysia. *Malaysian J Pathol*, 123 – 132.

Toma, B., Dufour, B., Sanan, M., Bénet, J. J., Ellis, P., Moutou, F., & Louzã, A. (2004). *Epidemiologia Aplicada à luta colectiva contra as principais Doenças Animais transmissíveis*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.

Vieira, M. L., Gama-Simões, M. J., & Collares-Pereira, M. (2006). Human leptospirosis in Portugal: a retrospective study of eighteen years. *International Society for Infectious Diseases*, 378–386.

Vijayachari, P., Sugunan, A. P., & Shiriram, A. N. (November de 2008). Leptospirosis: an emerging global public health problem. *J. Biosci*, 33, 557–569.

Vrain, C. K. (2004). La Leptospirose canine : Revue.

Ward, M. P., Glickman, L. T., & Guptill, L. E. (2002). Prevalence of and risk factors of leptospirosis among dogs in United States and Canada. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 220, 53-58.

World Health Organization. (2003). *Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control*. Geneva, Suíça: World Health Organization.

**ANEXO**



# **Relatório de Actividades**

**Estágio Curricular 2015/2016**

**Clinica de Animais de Companhia, Desporto e Exóticos – Hospital  
Veterinário de Aveiro**

**Aluno – João Pedro Gonçalves da Cruz**

**Orientador Externo – Dra. Inês Santos**

**Orientador Científico Interno – Prof. Dra Sofia Duarte**

**Co-Orientador Científico Interno – Prof. Dra. Sofia Anastácio**

Ciclo de Estudos Conducente ao Grau Mestre em Medicina Veterinária

Escola Universitária Vasco da Gama – Coimbra

2015/2016

O meu estágio curricular, na área “Clínica de Animais de Companhia, Desporto e Exóticos”, decorreu no Hospital Veterinário de Aveiro, sob orientação da Dra. Inês Santos, no período de 31 de Agosto de 2015 a 18 de Dezembro de 2015.

O estágio teve como orientação interna, a Dra. Sofia Duarte (Orientadora Interna) e a Dra. Sofia Anastácio (Co-Orientadora Interna).



ESCOLA  
UNIVERSITÁRIA



MEDICINA  
VETERINÁRIA

## REGISTO DE CASUÍSTICA

	Caninos	Felinos	TOTAL
<b>Casos clínicos</b>			
Infecciologia	8	21	29
Cardiologia	16	0	16
Oftalmologia	12	3	15
Traumatologia	12	17	29
<b>TOTAL</b>	48	41	89
<b>Cirurgias</b>			
Orquiectomia	23	70	93
Ovariohisterectomia	26	54	80
Ortopedia	3	2	5
<b>TOTAL</b>	52	126	178
<b>Necrópsias</b>			
<b>TOTAL</b>	1	2	3